

(12) NACH DEM VERTRAG ÜBER DIE INTERNATIONALE ZUSAMMENARBEIT AUF DEM GEBIET DES  
PATENTWESENS (PCT) VERÖFFENTLICHTE INTERNATIONALE ANMELDUNG

(19) Weltorganisation für geistiges Eigentum  
Internationales Büro



(43) Internationales Veröffentlichungsdatum  
14. Juli 2005 (14.07.2005)

PCT

(10) Internationale Veröffentlichungsnummer  
WO 2005/064012 A3

(51) Internationale Patentklassifikation<sup>7</sup>: C12Q 1/68

(21) Internationales Aktenzeichen: PCT/EP2004/014414

(22) Internationales Anmeldedatum:  
17. Dezember 2004 (17.12.2004)

(25) Einreichungssprache: Deutsch

(26) Veröffentlichungssprache: Deutsch

(30) Angaben zur Priorität:  
103 61 137.1 23. Dezember 2003 (23.12.2003) DE

(71) Anmelder (für alle Bestimmungsstaaten mit Ausnahme  
von US): ALOPEX GMBH [DE/DE]; Fritz Hornschuch  
Strasse 9, 95326 Kulmbach (DE).

(72) Erfinder; und

(75) Erfinder/Anmelder (nur für US): MANN, Wolfgang  
[DE/DE]; Hornungsreuth 22A, 95512 Neudrossenfeld  
(DE). KRISPIN, Oliver [DE/DE]; Haydnstrasse 19,  
95548 Bayreuth (DE). HOFFMÜLLER, Petra [DE/DE];  
Romanstrasse 10B, 95444 Bayreuth (DE).

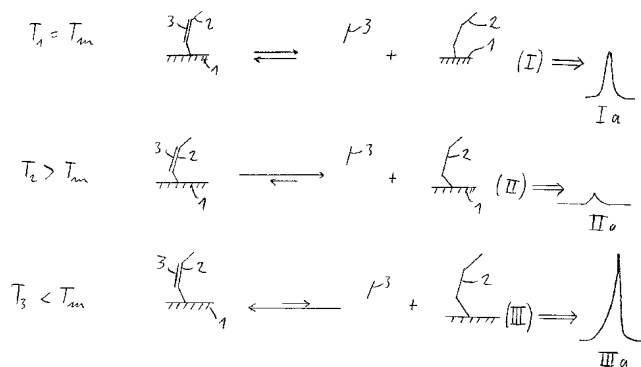
(74) Anwalt: GANAHL ET AL., Bernhard; HUBER &  
SCHÜSSLER, Truderinger Strasse 246, 81825 München  
(DE).

(81) Bestimmungsstaaten (soweit nicht anders angegeben, für  
jede verfügbare nationale Schutzrechtsart): AE, AG, AL,  
AM, AT, AU, AZ, BA, BB, BG, BR, BW, BY, BZ, CA, CH,  
CN, CO, CR, CU, CZ, DE, DK, DM, DZ, EC, EE, EG, ES,  
FI, GB, GD, GE, GH, GM, HR, HU, ID, IL, IN, IS, JP, KE,

[Fortsetzung auf der nächsten Seite]

(54) Title: METHOD FOR VALIDATING AND/OR CALIBRATING A SYSTEM FOR PERFORMING HYBRIDISATION EXPERIMENTS, MICROARRAY, AND KIT THEREFOR

(54) Bezeichnung: VERFAHREN ZUM VALIDIEREN UND/ODER KALIBRIEREN EINES SYSTEMS ZUR DURCHFÜHRUNG VON HYBRIDISIERUNGSEXPERIMENTEN, MIKROARRAY UND KIT HIERFÜR



(57) Abstract: The invention relates to a method for calibrating and/or validating a system for performing a microarray experiment, in addition to a microarray, and a kit therefor. The inventive method comprises the following steps: a) a microarray is prepared, said microarray comprising at least one first measuring point containing probe molecules (PM) that are complementary to the target molecules and can form, with the target molecules, hybrids that have a melting temperature  $T_m(\text{PM})$ , and at least one second measuring point containing probe molecules (MM1) that are partially complementary to the target molecules and can form, with the target molecules, partial hybrids that have a melting temperature  $T_m(\text{MM1})$ ; b) target molecules are provided, that are complementary to probe molecules (PM) in at least one first measuring point of the microarray; c) a hybridisation experiment is performed with the microarray and the target molecules, with variation of a defined parameter; and d) the signal intensities are determined according to the variation of the parameter. The parameter value at the maximum difference between the signal intensities of the first and second measuring points is the parameter value for which the system is approximately in equilibrium in relation to the hybrids in the first measuring point, and according to which the system is calibrated.

(57) Zusammenfassung: Die vorliegende Erfindung ein Verfahren zum Kalibrieren und/oder Validieren eines Systems zum Durchführen eines Mikroarray-Experimentes und ein Mikroarray und ein Kit hierfür. Das erfindungsgemäße Verfahren umfasst folgende Schritte: a) Bereitstellen eines

[Fortsetzung auf der nächsten Seite]

WO 2005/064012 A3



KG, KP, KR, KZ, LC, LK, LR, LS, LT, LU, LV, MA, MD, MG, MK, MN, MW, MX, MZ, NA, NI, NO, NZ, OM, PG, PH, PL, PT, RO, RU, SC, SD, SE, SG, SK, SL, SM, SY, TJ, TM, TN, TR, TT, TZ, UA, UG, US, UZ, VC, VN, YU, ZA, ZM, ZW.

- (84) **Bestimmungsstaaten** (soweit nicht anders angegeben, für jede verfügbare regionale Schutzrechtsart): ARIPO (BW, GH, GM, KE, LS, MW, MZ, NA, SD, SL, SZ, TZ, UG, ZM, ZW), eurasisches (AM, AZ, BY, KG, KZ, MD, RU, TJ, TM), europäisches (AT, BE, BG, CH, CY, CZ, DE, DK, EE, ES, FI, FR, GB, GR, HU, IE, IS, IT, LT, LU, MC, NL, PL, PT, RO, SE, SI, SK, TR), OAPI (BF, BJ, CF, CG, CI, CM, GA, GN, GQ, GW, ML, MR, NE, SN, TD, TG).

**Veröffentlicht:**

- mit internationalem Recherchenbericht
- vor Ablauf der für Änderungen der Ansprüche geltenden Frist; Veröffentlichung wird wiederholt, falls Änderungen eintreffen

(88) **Veröffentlichungsdatum des internationalen**

**Recherchenberichts:** 9. September 2005

Zur Erklärung der Zweibuchstaben-Codes und der anderen Abkürzungen wird auf die Erklärungen ("Guidance Notes on Codes and Abbreviations") am Anfang jeder regulären Ausgabe der PCT-Gazette verwiesen.

Mikroarrays mit - zumindest einem ersten Messpunkt mit darin befindlichen Sondenmolekülen (PM), die komplementär zu Zielmolekülen sind und die mit den Zielmolekülen Hybride ausbilden können, die eine Schmelztemperatur  $T_m(\text{PM})$  aufweisen. - zumindest einem zweiten Messpunkt mit darin befindlichen Sondenmolekülen (MM1), die unvollständig komplementär zu den Zielmolekülen sind und die mit den Zielmolekülen Fehlhybride ausbilden können, die eine Schmelztemperatur  $T_m(\text{MM1})$  aufweisen, b) Bereitstellen von Zielmolekülen die zu Sondenmolekülen (PM) in einem oder mehreren ersten Messpunkten des Mikroarrays komplementär sind, und c) Durchführen eines Hybridisierungsexperimentes mit dem Mikroarray und den Zielmolekülen bei Variation eines bestimmten Parameters, d) Feststellen der Signalintensitäten in Abhängigkeit der Veränderung des Parameters, wobei der Parameterwert bei dem maximalen Unterschied zwischen den Signalintensitäten der ersten und zweiten Messpunkte der Parameterwert ist, bei dem das System bezüglich der Hybride in dem ersten Messpunkt annähernd im Gleichgewicht ist, und auf den das System kalibriert wird.

# INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International Application No

PCT/EP2004/014414

## A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER

IPC 7 C12Q1/68

According to International Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPC

## B. FIELDS SEARCHED

Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols)

IPC 7 C12Q

Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched

Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practical, search terms used)

EPO-Internal, WPI Data, PAJ, EMBASE, BIOSIS

## C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category *	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X	WO 01/66804 A (PROTOGENE LABORATORIES, INC) 13 September 2001 (2001-09-13) pages 1-4, 9, 11 pages 22-24, 36 - page 37 claims 1, 15, 16, 43, 44	1, 3-21
X	US 2003/170672 A1 (CHO JUN-HYEONG ET AL) 11 September 2003 (2003-09-11) paragraphs '0002!', '0009!', '0023! - '0031! figures 1, 2	1
X	WO 03/016327 A (MOUNT SINAI SCHOOL OF MEDICINE; SEALFON, STUART; WURMBACH, ELISA; YUEN) 27 February 2003 (2003-02-27) paragraphs '0017!', '0087!', '0096!', '0112! - '0114!', '0131! ----- -/--	2

☒ Further documents are listed in the continuation of box C.

☒ Patent family members are listed in annex.

\* Special categories of cited documents:

- \*A\* document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance
- \*E\* earlier document but published on or after the international filing date
- \*L\* document which may throw doubts on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified)
- \*O\* document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means
- \*P\* document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed

- \*T\* later document published after the international filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to understand the principle or theory underlying the invention
- \*X\* document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step when the document is taken alone
- \*Y\* document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other such documents, such combination being obvious to a person skilled in the art.
- \*Z\* document member of the same patent family

Date of the actual completion of the international search

29 April 2005

Date of mailing of the international search report

28/07/2005

Name and mailing address of the ISA

European Patent Office, P.B. 5818 Patentlaan 2  
NL - 2280 HV Rijswijk  
Tel. (+31-70) 340-2040, Tx. 31 651 epo nl,  
Fax: (+31-70) 340-3016

Authorized officer

Bellmann, A

# INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International Application No  
PCT/EP2004/014414

## C.(Continuation) DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category *	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X	HELD G A ET AL: "Modeling of DNA microarray data by using physical properties of hybridization." PROCEEDINGS OF THE NATIONAL ACADEMY OF SCIENCES OF THE UNITED STATES OF AMERICA. 24 JUN 2003, vol. 100, no. 13, 24 June 2003 (2003-06-24), pages 7575-7580, XP002326182 ISSN: 0027-8424 cited in the application the whole document	3-21
A	WO 02/072868 A (BIOINFORMATICS DNA CODES, LLC; BENIGHT, ALBERT, S; HOPFINGER, ANTON, J) 19 September 2002 (2002-09-19) pages 4,23,28, page 71 - page 75 tables 3,4	
A	LOCKHART D J ET AL: "EXPRESSION MONITORING BY HYBRIDIZATION TO HIGH-DENSITY OLIGONUCLEOTIDE ARRAYS" BIO/TECHNOLOGY, NATURE PUBLISHING CO. NEW YORK, US, vol. 14, no. 13, December 1996 (1996-12), pages 1675-1680, XP002022521 ISSN: 0733-222X the whole document	
A	DE 100 38 080 A1 (GIESING, MICHAEL; SL MICROTEST WISSENSCHAFTLICHE GERAETE GMBH) 21 February 2002 (2002-02-21) paragraphs '0068!, '0069!	
A	WODICKA ET AL: "GENOME-WIDE EXPRESSION MONITORING IN SACCHAROMYCES CEREVISIAE" NATURE BIOTECHNOLOGY, NATURE PUBLISHING, US, vol. 15, December 1997 (1997-12), pages 1359-1367, XP002100297 ISSN: 1087-0156 the whole document	
A	WO 00/22173 A (PRINCETON UNIVERSITY; LEVINE, ARNOLD, J; ALON, URI) 20 April 2000 (2000-04-20) cited in the application page 5 - page 6	

# INTERNATIONAL SEARCH REPORT

Information on patent family members

International Application No

PCT/EP2004/014414

Patent document cited in search report		Publication date	Patent family member(s)	Publication date
WO 0166804	A	13-09-2001	AU 4357301 A WO 0166804 A2	17-09-2001 13-09-2001
US 2003170672	A1	11-09-2003	KR 2003072883 A CN 1443854 A EP 1356860 A2 JP 2003279576 A	19-09-2003 24-09-2003 29-10-2003 02-10-2003
WO 03016327	A	27-02-2003	CA 2457579 A1 EP 1425290 A1 WO 03016327 A1 US 2003165916 A1	27-02-2003 09-06-2004 27-02-2003 04-09-2003
WO 02072868	A	19-09-2002	WO 02072868 A2 US 2003077607 A1	19-09-2002 24-04-2003
DE 10038080	A1	21-02-2002	NONE	
WO 0022173	A	20-04-2000	US 6489096 B1 AU 1597400 A WO 0022173 A1 US 2003044836 A1	03-12-2002 01-05-2000 20-04-2000 06-03-2003

# INTERNATIONALER RECHERCHENBERICHT

Internationales Aktenzeichen

PCT/EP2004/014414

**A. KLASSIFIZIERUNG DES ANMELDUNGSGEGENSTANDES**  
IPK 7 C12Q1/68

Nach der Internationalen Patentklassifikation (IPK) oder nach der nationalen Klassifikation und der IPK

## B. RECHERCHIERTE GEBIETE

Recherchierter Mindestprüfstoff (Klassifikationssystem und Klassifikationssymbole)

IPK 7 C12Q

Recherchierte aber nicht zum Mindestprüfstoff gehörende Veröffentlichungen, soweit diese unter die recherchierten Gebiete fallen

Während der internationalen Recherche konsultierte elektronische Datenbank (Name der Datenbank und evtl. verwendete Suchbegriffe)

EPO-Internal, WPI Data, PAJ, EMBASE, BIOSIS

## C. ALS WESENTLICH ANGESEHENE UNTERLAGEN

Kategorie*	Bezeichnung der Veröffentlichung, soweit erforderlich unter Angabe der in Betracht kommenden Teile	Betr. Anspruch Nr.
X	WO 01/66804 A (PROTOGENE LABORATORIES, INC) 13. September 2001 (2001-09-13) Seiten 1-4,9,11 Seiten 22-24,36 - Seite 37 Ansprüche 1,15,16,43,44 -----	1,3-21
X	US 2003/170672 A1 (CHO JUN-HYEONG ET AL) 11. September 2003 (2003-09-11) Absätze '0002!', '0009!', '0023!' - '0031! Abbildungen 1,2 -----	1
X	WO 03/016327 A (MOUNT SINAI SCHOOL OF MEDICINE; SEALFON, STUART; WURMBACH, ELISA; YUEN) 27. Februar 2003 (2003-02-27) Absätze '0017!', '0087!', '0096!', '0112!' - '0114!', '0131! ----- -/-	2

☒ Weitere Veröffentlichungen sind der Fortsetzung von Feld C zu entnehmen

☒ Siehe Anhang Patentfamilie

\* Besondere Kategorien von angegebenen Veröffentlichungen :

\*A\* Veröffentlichung, die den allgemeinen Stand der Technik definiert, aber nicht als besonders bedeutsam anzusehen ist

\*E\* älteres Dokument, das jedoch erst am oder nach dem internationalen Anmeldedatum veröffentlicht worden ist

\*L\* Veröffentlichung, die geeignet ist, einen Prioritätsanspruch zweifelhaft erscheinen zu lassen, oder durch die das Veröffentlichungsdatum einer anderen im Recherchenbericht genannten Veröffentlichung belegt werden soll oder die aus einem anderen besonderen Grund angegeben ist (wie ausgeführt)

\*O\* Veröffentlichung, die sich auf eine mündliche Offenbarung, eine Benutzung, eine Ausstellung oder andere Maßnahmen bezieht

\*P\* Veröffentlichung, die vor dem internationalen Anmeldedatum, aber nach dem beanspruchten Prioritätsdatum veröffentlicht worden ist

\*T\* Spätere Veröffentlichung, die nach dem internationalen Anmeldedatum oder dem Prioritätsdatum veröffentlicht worden ist und mit der Anmeldung nicht kollidiert, sondern nur zum Verständnis des der Erfindung zugrundeliegenden Prinzips oder der ihr zugrundeliegenden Theorie angegeben ist

\*X\* Veröffentlichung von besonderer Bedeutung; die beanspruchte Erfindung kann allein aufgrund dieser Veröffentlichung nicht als neu oder auf erfinderischer Tätigkeit beruhend betrachtet werden

\*Y\* Veröffentlichung von besonderer Bedeutung; die beanspruchte Erfindung kann nicht als auf erfinderischer Tätigkeit beruhend betrachtet werden, wenn die Veröffentlichung mit einer oder mehreren anderen Veröffentlichungen dieser Kategorie in Verbindung gebracht wird und diese Verbindung für einen Fachmann naheliegend ist

\*&\* Veröffentlichung, die Mitglied derselben Patentfamilie ist

Datum des Abschlusses der internationalen Recherche

29. April 2005

Absenddatum des internationalen Recherchenberichts

28/07/2005

Name und Postanschrift der Internationalen Recherchenbehörde  
Europäisches Patentamt, P.B. 5818 Patentlaan 2  
NL - 2280 HV Rijswijk  
Tel. (+31-70) 340-2040, Tx. 31 651 epo nl,  
Fax: (+31-70) 340-3016

Bevollmächtigter Bediensteter

Beilmann, A

# INTERNATIONALER RECHERCHENBERICHT

Internationales Aktenzeichen

PCT/EP2004/014414

C.(Fortsetzung) ALS WESENTLICH ANGESEHENE UNTERLAGEN

Kategorie*	Bezeichnung der Veröffentlichung, soweit erforderlich unter Angabe der in Betracht kommenden Teile	Betr. Anspruch Nr.
X	HELD G A ET AL: "Modeling of DNA microarray data by using physical properties of hybridization." PROCEEDINGS OF THE NATIONAL ACADEMY OF SCIENCES OF THE UNITED STATES OF AMERICA. 24 JUN 2003, Bd. 100, Nr. 13, 24. Juni 2003 (2003-06-24), Seiten 7575-7580, XP002326182 ISSN: 0027-8424 in der Anmeldung erwähnt das ganze Dokument	3-21
A	WO 02/072868 A (BIOINFORMATICS DNA CODES, LLC; BENIGHT, ALBERT, S; HOPFINGER, ANTON, J) 19. September 2002 (2002-09-19) Seiten 4,23,28, Seite 71 - Seite 75 Tabellen 3,4	
A	LOCKHART D J ET AL: "EXPRESSION MONITORING BY HYBRIDIZATION TO HIGH-DENSITY OLIGONUCLEOTIDE ARRAYS" BIO/TECHNOLOGY, NATURE PUBLISHING CO. NEW YORK, US, Bd. 14, Nr. 13, Dezember 1996 (1996-12), Seiten 1675-1680, XP002022521 ISSN: 0733-222X das ganze Dokument	
A	DE 100 38 080 A1 (GIESING, MICHAEL; SL MICROTTEST WISSENSCHAFTLICHE GERAETE GMBH) 21. Februar 2002 (2002-02-21) Absätze '0068!, '0069!	
A	WODICKA ET AL: "GENOME-WIDE EXPRESSION MONITORING IN SACCHAROMYCES CEREVISIAE" NATURE BIOTECHNOLOGY, NATURE PUBLISHING, US, Bd. 15, Dezember 1997 (1997-12), Seiten 1359-1367, XP002100297 ISSN: 1087-0156 das ganze Dokument	
A	WO 00/22173 A (PRINCETON UNIVERSITY; LEVINE, ARNOLD, J; ALON, URI) 20. April 2000 (2000-04-20) in der Anmeldung erwähnt Seite 5 - Seite 6	

# INTERNATIONALER RECHERCHENBERICHT

Angaben zu Veröffentlichung, die zur selben Patentfamilie gehören

Internationales Aktenzeichen

PCT/EP2004/014414

Im Recherchenbericht angeführtes Patentdokument		Datum der Veröffentlichung	Mitglied(er) der Patentfamilie		Datum der Veröffentlichung
WO 0166804	A	13-09-2001	AU	4357301 A	17-09-2001
			WO	0166804 A2	13-09-2001
US 2003170672	A1	11-09-2003	KR	2003072883 A	19-09-2003
			CN	1443854 A	24-09-2003
			EP	1356860 A2	29-10-2003
			JP	2003279576 A	02-10-2003
WO 03016327	A	27-02-2003	CA	2457579 A1	27-02-2003
			EP	1425290 A1	09-06-2004
			WO	03016327 A1	27-02-2003
			US	2003165916 A1	04-09-2003
WO 02072868	A	19-09-2002	WO	02072868 A2	19-09-2002
			US	2003077607 A1	24-04-2003
DE 10038080	A1	21-02-2002	KEINE		
WO 0022173	A	20-04-2000	US	6489096 B1	03-12-2002
			AU	1597400 A	01-05-2000
			WO	0022173 A1	20-04-2000
			US	2003044836 A1	06-03-2003